

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پیراپزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد خون شناسی آزمایشگاهی و بانک خون

عنوان:

بررسی اثر مهارکننده تلومراز MST-312 در ترکیب با داروی شیمی درمانی  
دوکسوروبیسین بر مرگ رده ی سلولی لوسمی لنفوبلاستیک حاد (NALM-6)

توسط: نرگس قاسمی مهر

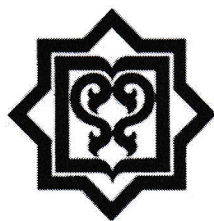
استاد راهنما: دکتر احمد فاطمی

اساتید مشاور: دکتر علیرضا فارسی نژاد، دکتر روح الله میرزایی

سال تحصیلی: ۹۶-۹۷

کد پایان نامه: ۱۱۲





Kerman University of Medical Science, Department of Hematology and Blood Banking,  
Molecular Medicine Research center

**Title:**

Evaluation of combination of the telomerase inhibitor, MST-312, and doxorubicin on cell  
death of pre-B acute lymphoblastic leukemia cell line NALM-6

**By:**

Narges Ghasemimehr

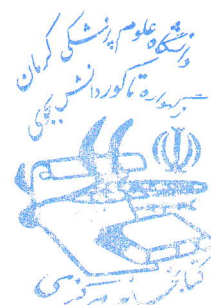
**Supervisor:**

Dr. Ahmad Fatemi

**Advisors:**

Dr. Alireza Farsinejad

Dr. Roohollah Mirzaee



**Year:**

2018

بررسی اثر مهارکننده تلومراز MST-312 در ترکیب با داروی شیمی درمانی دوکسوروبیسین بر مرگ رده ی سلولی

لوسمی لنفوبلاستیک حاد (NALM-6)

### چکیده :

**سابقه و هدف:** امروزه تلاش های روز افزونی در زمینه استفاده همزمان از داروهای شیمی درمانی مانند دوکسوروبیسین همراه با داروهای اختصاصی تومور بمنظور افزایش حساسیت سلول های توموری به داروهای شیمی درمانی و کاهش دوز مورد نیاز این داروها در حال انجام است. در این راستا هدف قرار دادن آنزیم تلومراز بدلیل پتانسیل تکثیر نامحدودی که به سلول های سرطانی می دهد توجه چشمگیری را به خود اختصاص داده است. همچنین این یافته که تلومراز تقریباً در ۹۰-۸۵٪ سلول های سرطانی بیان شده، اما در اکثر سلول های طبیعی غیر فعال می باشد، باعث شده که مهار تلومراز بعنوان استراتژی درمانی هدفمند و مفیدی در مبارزه با سلول های سرطانی شناخته شود. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر مهارکننده تلومراز MST-312، یک مشتق شیمیایی از اپیگالوکاتچین گالات (EGCG)، بر مرگ سلولی ناشی از دوکسوروبیسین در سلول های لوسمی لنفوبلاستی حاد NALM-6 می باشد.

**روش ها:** در این مطالعه، پس از تیمار ۴۸ ساعته سلول های NALM-6 با غلظت های مختلف MST-312 و دوکسوروبیسین بصورت مجزا و ترکیبی، زنده مانی سلولی با آزمون دفع رنگ تریپان بلو، فعالیت متابولیک سلولی با روش رنگ سنجی MTT، آپوپتوز سلولی به روش فلوسیتومتری با استفاده از اتصال به آنکسین-7AAD / v و تغییرات در سطح ژن با بررسی بیان ژن های hTERT، c-Myc، Bax و Bcl-2 مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** نتایج ما نشان داد که زنده مانی سلولی بدنال تیمار با MST-312 یا دوکسوروبیسین بصورت وابسته به دوز و زمان کاهش می یابد و درمان ترکیبی این دو دارو بصورت سینرژیسم باعث کاهش قابل توجه زنده مانی سلولی نسبت به گروه تیمار تکی هر دارو می شود. هم راستا با این نتایج، این اثر سینرژیسم در افزایش القای سیتوتوکسیستی و آپوپتوز سلولی مشاهده شد. بعلاوه تیمار ۴۸ ساعته سلول های NALM-6 با ترکیب MST-312 و دوکسوروبیسین

باعث افزایش قابل توجه ژن پیش آپوپتوزی Bax و نسبت Bax/Bcl-2 و کاهش ژن ضد آپوپتوزی Bcl-2 شد که تاییدی بر آپوپتوز القا شده توسط این داروها بود، همچنین کاهش بیان زیر واحد hTERT تلومراز و ژن تنظیم کننده آن، c-Myc در گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل مشاهده شد.

**نتیجه گیری:** بنظر می رسد که ترکیب MST-312 و دوکسوروبیسین بتواند یک استراتژی درمانی مفید برای درمان ALL باشد؛ که این امر مستلزم بررسی های تکمیلی در مکانیسم مولکولی و کارآزمایی برای کاربرد قابل اعتماد این ترکیب در درمان ALL است.

**کلمات کلیدی:** تلومراز، دوکسوروبیسین، MST-312، NALM-6

## **A combination of Telomerase inhibitor, MST-312 and doxorubicin synergistically induce apoptosis in B-lymphoblastic leukemia cell line NALM-6**

### **Abstract**

There have been consistent efforts in concomitant administration of chemotherapy drugs such as doxorubicin with another more tumor-specific drug in order that increase sensitivity of tumor cells to the cytotoxicity of doxorubicin and reduce necessary therapeutic dosage. Using telomerase-targeted therapy for cancer has mentioned due to unlimited replicative potential obtained from high expression of telomerase enzymes by cancer cells. It's whiles telomerase is expressed in almost all cancer cells but is inactive in most normal somatic cells.

### **Materials and Methods:**

This study was aimed to investigate the effect of combination treatment of MST-312 and doxorubicin to enhance doxorubicin therapy efficacy in NALM-6 cells. Evaluation of cell viability, cell cytotoxicity, apoptosis, and qRT-PCR of c-Myc, hTERT, and other apoptosis-related target genes were performed after 48h in cells treated with MST-312, doxorubicin alone and in combination.

### **Results:**

Our results showed that cell viability of NALM-6 cells was inhibited after treatment with MST-312 or doxorubicin alone by a dose-dependent manner, and the drug combination also synergistically inhibited cell viability. Also this synergism effect was observed in induced augmentation of cytotoxicity and apoptosis. Consistently, The mRNA expression of Bcl-2 was reduced and the mRNA level of Bax and Bax/Bcl-2 ratio was up-regulated significantly following co-treatment with doxorubicin and MST-312 in NALM-6 cells, which confirm synergistic effect of MST-312 and doxorubicin against apoptosis. Also our results demonstrated that the drug combination significantly suppressed both c-Myc and hTERT mRNA level in NALM-6 cells.

### **Discussion:**

It seems that combination of MST-312 and doxorubicin maybe a beneficial therapy for ALL treatment; as respects, supplementary investigation in molecular mechanism and clinical trial is necessary for trusty application of this combination therapy in ALL therapy.

**Keywords:** Telomerase, MST-312, doxorubicin, NALM-6





دانشگاه علوم پزشکی کرمان  
تحصیلات تکمیلی دانشگاه

بسمه تعالی

تاریخ ۹۷/۴/۲  
شماره ۴۲۴  
پیوست

### صور تجلسه دفاع از پایان نامه

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی خانم نرگس قاسمی مهر دانشجوی کارشناسی ارشد رشته خون شناسی و بانک خون دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان بررسی اثر مهار کننده تلومراز MST-312 در ترکیب با داروی شیمی درمانی دوکسوروبیسین بر مرگ سلولی رده سلولی لوسمی لنفوبلاستیک حاد Nalm-6

در ساعت ۱۲ روز یکشنبه مورخ ۹۷/۰۴/۰۳ با حضور اعضای محترم هیات داوران متشکل از:

سمت	نام و نام خانوادگی	امضا
الف: استاد(ان) راهنما	دکتر احمد فاطمی	
ب: استاد(ان) مشاور	دکتر علیرضا فارسی نژاد دکتر روح اله میرزایی	
ج: عضو هیات داوران (داخلی)	دکتر غلامحسین حسن شاهی	
د: عضو هیات داوران (خارجی)	دکتر عبدالله جعفرزاده	
ه: نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر مهدی زمانلو	

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه ..... عالی ..... و نمره ..... ۲۰/۱ ..... مورد  
بید قرار گرفت.

مهر و امضاء معاون آموزشی

دانشگاه علوم پزشکی کرمان  
دانشکده پیراپزشکی